

LS174T-celler | 300392

Allmän information

Description

Cellinjen LS147T är en variant av LS-180, som båda härrör från ett adenokarcinom av Duke's typ B i tjocktarmen hos en 58-årig vit kvinnlig patient. Den ursprungliga LS-180-linjen etablerades genom odling av den malda tumörvävnaden under 10 månader. LS-147T, liksom dess föräldralinje, utmärker sig genom att uttrycka flera onkogener, däribland myc, myb, ras och fos, medan den är negativ för andra som sis, abl och ros. Denna linje uttrycker också höga nivåer av carcinoembryonalt antigen (CEA), interleukin 6 (IL-6) och interleukin 10 (IL-10), vilka är viktiga markörer och potentiella mål inom kolorektalcancerforskningen.

Dessa celler uppvisar flera viktiga kännetecken för epitelceller i tjocktarmen, bland annat rikligt med mikrovilli och intracytoplasmiska mucinvakuoler, vilket är kännetecken som vanligtvis förknippas med sekretoriska celler i tjocktarmens slemhinna. Elektronmikroskopiska studier har bekräftat dessa strukturella detaljer, vilket ytterligare stöder deras ursprung och differentieringsstatus. Det är viktigt att notera att LS-147T-cellerna har visat sig vara tumörframkallande hos immundepriverade möss och konsekvent producerat tumörer när de inokulerats subkutant i höga celldensiteter, vilket bekräftar deras maligna potential.

Dessutom är cellinjen LS-147T särskilt värdefull i studier som fokuserar på de molekylära och immunologiska aspekterna av kolorektal cancer. Det har rapporterats att denna linje är lättare att subkultivera jämfört med sin föräldralinje, LS-180, vilket gör den till ett mer praktiskt val för långtidsstudier. Den robusta produktionen av CEA i dessa celler, som är betydligt högre än i andra etablerade linjer som HT-29, gör LS-147T till en viktig modell för att förstå dynamiken i tumörmarkörer och utforska riktade behandlingar av kolorektalcancer.

Organism

Människan

Tissue

Kolon

Disease

Adenocarcinom

Synonyms

Ls174T, LS174t, Ls-174-T, LS-174-T, LS 174 T, LS174T, Ls-174T, LS 174T, LS-174, LS174

Egenskaper

Age

58 år

Gender

Kvinna

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitelliknande

Growth properties

Följsam

LS174T-celler | 300392

Lagstadgade uppgifter

Citation	LS174T (Cytion katalognummer 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Biomolekylära data

Protein expression	Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNA-uttryck +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, Blodgrupp O
Isoenzymes	ADA, 1: G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, PGD, A, ES-D, 1, PEP-D, 1
Oncogenes	Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Ja, i nakna möss
Reverse transcriptase	Negativt
Products	Carcinoembryonalt antigen (CEA) 1944 ng/106 celler på 10 dagar, mucin, interleukin-10 (IL-10), interleukin-6 (IL-6)
Mutational profile	LS-174T-celler bär på en mutation i kodon 12 i Kras-genen: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x med en x-kromosom som saknas men inga andra kromosomavvikelser

Hantering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA

LS174T-celler | 300392

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:2 till 1:5 rekommenderas

Seeding density 5 till 8×10^4 cell^{er}/cm²

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Post-Thaw Recovery Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

LS174T-celler | 300392

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

LS174T-celler | 300392**Storage
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,14
D13S317: 10,11
D16S539: 11,13
D5S818: 11,15
D7S820: 10,3,11
TH01: 6,7
TPOX: 8,9
vWA: 15,17,18,19
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,30,31
D18S51: 11,13
Penta E: 15,16
Penta D: 10
D8S1179: 11,12,16
FGA: 21,22
D1S1656: 12,13,14,18.3,19.3
D6S1043: 12,13,14
D2S1338: 18,22
D12S391: 18,19,20
D19S433: 13,14,15

HLA-alleler

A*: '02:xx, '30:01:01
B*: '13:xx, '35:01:01
C*: '04:01:01, '06:xx
DRB1*: '04:02:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '02:02:01, '03:02:01
DPB1*: '03:01:01G, '04:01:01
E: '01:01, '01:03